Литература

1. Племенная работа в птицеводстве / Я. С. Ройтер, А. В. Егорова, Е. С. Устинова и др.: под ред. В. И. Фисинина и Я. С. Ройтера. – Сергиев Посад, 2011. – 255 с.

2. Лабораторные исследования в ветеринарии: биохимические и микологические / Сост. Антонов Б. И., Яковлева. Т. Ф., Дерябина В. И. и др.; под ред. Антонова Б. И. – М.: Агропромиздат, 1991. – 287 с.

3.Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др. Под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987.- 368 с.

4.Погодаев, В. А. Продуктивность и интерьерные особенности индеек в зависимости от плотности посадки в клеточных батарях КБИ – 2-00.000 / В. А. Погодаев, В. А. Канивец // Птица и птицепродукты. - 2012. - № 2. – С. 32-35.

Контактная информации об авторах для переписки

Погодаев Владимир Аникеевич, доктор с.-х. наук, профессор, зав. кафедрой технологии производства сельскохозяйственной продукции, e-mail: dissovet-academy@mail.ru;, ФГБОУ ВПО «Северо-Кавказская государственная гуманитарно-технологическая академия»

Канивец Виктор Алексеевич, кандидат с.-х. наук, директор, тел.: 8 (87951) 43777;

Шинкаренко Лидия Александровна, главный зоотехник, тел.: 8 (87951) 43777, ФГУП ППЗ «Северо-Кавказская зональная опытная станция по птицеводству» Россельхозакадемии

УДК 636:615.36

Ржепаковский И.В., Тимченко Л.Д.

(ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет» («СКФУ»)

ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ У КРОЛИКОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВАКЦИНЫ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ «ВГНКИ» ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА ЖИВОТНЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ПТИЦ

Ключевые слова: иммуномодулятор, поствакцинальный иммунитет.

Введение.

Иммунная система выполняет важную функцию по сохранению постоянства внутренней среды организма, осуществляемую путем распознавания и элиминации из организма чужеродных веществ антигенной природы [17]. Такая особенность иммунной системы положена в основу активной специфической иммунопрофилактики, то есть создания искусственного активного иммунитета путем введения вакцин, что крайне важно для животных в связи с интенсификацией сельского хозяйства и усложнением экологической ситуации. Отрицательными сторонами специфической иммунопрофилактики, особенно при использовании живых вакцин, является создание чрезмерной антигенной нагрузки на организм животных, приводящей с одной стороны к возможным гиперэргическим реакциям, а с другой к отчетливо регистрируемым или скрытым иммунодефицитам [15]. Однако, еще более распространенной и сложной проблемой специфической иммунопрофилактики, является недостаточная эффективность поствакцинального иммунитета. Это связано, во многом, с распространением первичных и вторич-

ных иммунодефицитов, этиологическими факторами которых, являются нарушения содержания, кормления животных, а также бесконтрольное использование антибиотиков и других химиотерапевтических средств. В связи с этим для повышения эффективности специфической иммунизации, наряду с улучшением кормления и содержания животных, способствующим усилению естественной резистентности, необходимо использовать биологически активные препараты, обладающие иммунотропными свойствами [6].

В последнее десятилетие российская наука интенсивно занимается разработкой биологически активных препаратов на основе животного и растительного сырья и изучением особенностей их влияния на поствакцинальный иммунитет.

Так, например, для повышения эффективности специфической профилактики ньюкаслской болезни у цыплят рекомендуется применять вирусвакцину совместно с иммуностимулятором тимогеном [1, 17].

Для нормализации обменных процессов в организме и повышения иммунологической реактивности при вакцинации против сальмонеллеза рекомендуется применять поросятам-сосунам полирибонат и фоспренил, телятам месячного возраста рекомендуется применять фоспренил, а также цыплят месячного возраста для стимуляции поствакцинального иммунитета против болезни Нъюкасла рекомендуется применять однократно фоспренил за три дня до вакцинации [7].

Для повышения активности защитных механизмов организма крупного рогатого скота и создания напряженного иммунитета рекомендуется вводить хитозан при иммунизации против пастереллеза и лептоспироза [4].

Получены научные результаты по стимулирующему влиянию на гуморальный иммунитет низкомолекулярной ДНК из молок лососевых рыб при экспериментальном листериозе [16].

Показано, что препарат «Биостим-Т», полученный на основе семенников КРС, при пероральном введении стимулирует накопление антителообразующих клеток в селезенке, вызывает повышение титра антител к эритроцитам барана, фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови и макрофагов костного мозга [11].

Применение тимоцина совместно с ассоциированной вакциной против рота-, коронавирусных энтеритов и колибактериоза и живой культуральной противотейлериозной вакциной способствует значительному усилению первичного иммунного ответа у вакцинированных животных [3].

Установлено, что применение зоолана при вакцинации телят с использованием вакцины «Бивак» способствует повышению напряженности поствакцинального иммунитета у телят и повышению их сохранности. Комплексное применение зоолана и вакцины оказывает стимулирующее действие на образование вируснейтрализующих антител, а также на клеточные и гуморальные факторы резистентности организма у телят. Показано, что применение гликопина при вакцинации телят вакциной «Тривак» способствует значительному усилению формирования противовирусного поствакцинального иммунитета. Иммунный статус вакцинированных телят с одновременным применением гликопина характеризуется более высоким уровнем специфических антител к вирусу парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, вирусу диареи и высокой функциональной активностью иммунокомпетентных клеток [2].

Норстимулин, тимоактивин-199 в комплексе с вакциной против вирусной геморрагической болезни в 2-3 раза увеличивают накопление вирусспецифических антител у больных пассалурозом кроликов. Катозал в комплексе с вакциной против вирусной геморрагической болезни достоверно увеличивает накопление вирусспецифических антител у больных пассалурозом кроликов [10].

Перечисленные средства, несомненно, показали выраженное стимулирующее влияние на поствакцинальный иммунитет, однако исследователи не сообщают о дополнительных научных изысканияъ по их иммуномодулирующему действию. Иммуномодуляторы в условиях сельскохозяйственного производства по нашему мнению использовать более предпочтительно, так как в условиях интенсификации животноводства трудно контролировать базовый уровень напряженности иммунитета и использование при этом иммуностимуляторов, особенно на фоне вакцинации, может привести к развитию различных иммунопатологий.

В связи с этим остается актуальной научная проблема разработки и внедрения в ветеринарную практику иммуномодуляторов на основе экологически чистого животного и растительного сырья, обладаю-

щих, в том числе и эффективным модулирующим действием в отношении специфического поствакцинального иммунитета.

В результате проведения многолетних научных изысканий на базе ПНИЛ «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии» была разработана технология получения биологически активного препарата природного происхождения «СТЭМБ» на основе эмбриональных и внеэмбриональных тканей 10 суточных куриных эмбрионов [8]. В течение 2001-2010 гг. препарат был испытан на большом количестве сельскохозяйственных, домашних и лабораторных животных и показал высокую иммуномодулирующую активность по отношению к неспецифическим факторам иммунитета [9, 14]. Выявленная нами ранее иммунотропная активность препарата «СТЭМБ» привела к целесообразности испытания его в качестве иммуномодулятора поствакцинального специфического иммунитета по отношению к инактивированной поливалентной вакцине «ВГНКИ» против лептоспироза животных включающей смесь клонированных штаммов лептоспир серогрупп: Помона, Тарассови, Гриппотифоза и Сейро (серовар Харджио). Такой выбор вакцины связан с необходимостью проверки действия препарата при использовании убитых поливалентных вакцин, которые обычно показывают низкий уровень иммуногенности, в отличие от живых монокомпонентных вакцин.

Для решения поставленной цели были определены следующие задачи:

- оценить на кроликах иммуногенность вакцины поливалентной «ВГНКИ» против лептоспироза животных в сочетании с применением препарата «СТЭМБ»;

- изучить морфологические изменения внутренних органов кроликов при использовании вакцины поливалентной «ВГНКИ» против лептоспироза животных в сочетании с применением препарата «СТЭМБ».

Материалы и методы.

Исследования проводились на базе ФГУП «Ставропольская биофабрика» и ПНИЛ «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии» НИИ прикладных биотехнологий Северо-Каказского федерального университета.

Согласно нормативным документам СТО 00482861-0005-2006 (ФГУП «Ставропольская биофабрика»), включающим проверку вакцины на иммуногенность, были взяты две группы клинически здоровых, без абсцессов и поражений, нормальной упитанности кроликов живой массой 3-3,5 кг по 5 животных в каждой. Животным первой группы в ушную вену вводилась вакцина, животным второй группы кроме вакцины подкожно вводился препарат «СТЭМБ» в дозе 0,1 мл на кг живой массы однократно. Через 25 дней после введения вакцины у кроликов из ушной вены осуществляли забор крови в количестве 5-8 см3 в стеклянные пробирки, которые затем выдержали в термостате при 37°С в течение 30 минут. По истечению времени сгусток обводили и помещали в холодильник для ретракции сгустка на 1 сутки. Отстоявшуюся сыворотку исследовали в РМА (реакция микроагглютинации) со всеми штаммами лептоспир 5-10 суточного роста, входящими в состав вакцины, с накоплением 60-70 подвижных лептоспир в поле зрения микроскопа. Каждую пробу сыворотки разводили физиологическим раствором до 1:1600, антигеном - до 1:3200. РМА ставили на пластинках из оргстекла, которые после проведенных манипуляций помещали в термостат на 1 ч. Реакцию учитывали под микроскопом с конденсором темного поля при увеличении 20×1,5×10. Агглютинация проявлялась в склеивании лептоспир и образовании «паучков». Свободные концы лептоспир оставались подвижными. Титром сыворотки считали наибольшее разведение, в котором агглютинировало не менее 50% лептоспир [12].

Через 30 суток после начала опыта, включающего, проверку вакцины на иммуногенность, проводили убой всех подопытных животных с последующим патологоаномическим вскрытием и отбором кусочков органов для гистологического исследования.

Гистологические исследования органов проводились по общепринятой методике. Органы помещались в 10% нейтральный формалин на 3 суток, затем промывались в проточной воде в течение 24 часов. Резка осуществлялась на микротоме «Техном МЗП-01» и при помощи замораживающего устройства «ОМТ 0228» при температуре минус 12ºС. Срезы наклеивались на стекла и окрашивались гематоксилин-эозином без депарафинирования по общепринятой методике. Площадь красной и белой пульпы селезенки определяли микроморфометрически с использованием окуляр-микрометра×16 и микроскопа Микмед-2. Все подсчеты проводили под фиксированным увеличением на 10 раз-

личных полях гистопрепарата селезенки с расчетом среднего значения [13]. Результаты экспериментальной работы подвергали вариационно-статистической обработке с использованием программы Primer of Biostatistics (Version 4.03).

Результаты исследований.

При изучении развития поствакционального иммунитета против лептоспироза в обеих группах животных выявлено, что по отношению к серогруппе Помона в контроле наблюдалось увеличение титров выше нормативных у двух кроликов 1:800 и 1:3200, в опыте - у четырех от 1:800 до 1:1600; по отношению к серогруппе Тарассови в контроле и опыте у всех кроликов были практически максимальные титры; по отношению к серогруппе Гриппотифоза в контроле увеличение титров выше нормативных - у одного кролика 1:800, в опыте - у четырех от 1:800 до 1:3200; по отношению к серогруппе Сейро (серовар Харджио) в контроле у всех кроликов были минимальные нормативные титры 1:400, а в опыте увеличение титров выше нормативных было у трех кроликов от 1:800 до 1:1600.

Анализ результатов изучения специфического иммунитета при использовании препарата «СТЭМБ» показал, что по отношению к серогруппе Помона происходит выравнивание титров антител у большинства животных, в отличие от контроля, где титры антител колебались от минимальных у большинства животных (1:400) до максимальных значений (1:3200). По отношению к серогруппе Тарассови, введение препарат «СТЭМБ» не оказало влияния на титры антител, как в контрольной, так и в опытной группах титры были максимальными. По отношению к серогруппам Гриппотифоза и Сейро (серовар Харджио), произошло стимулирование поствакцинального иммунитета - в контроле почти у всех животных наблюдался минимальный уровень титров (1:400), а при использовании препарата «СТЭМБ» у большинства животных титры антител варьировали от 1:800 до 1:1600.

Для изучения влияния введения вакцины поливалентной «ВГНКИ» против лептоспироза животных в комплексе с иммуномодулятором «СТЭМБ» на морфологию внутренних органов. Через 30 дней после начала опыта, включающего, проверку вакцины на иммуногенность, проводили убой всех подопытных животных с последующим патологоаномическим вскрытием и отбором кусочков органов для гистологического исследования.

В результате патологоанатомического вскрытия у всех кроликов, которым вакцина вводилась совместно с препаратом «СТЭМБ» обнаружено увеличение селезенки, отмечается ее бугристость и выраженность структуры на разрезе, что соответствует патоморфологическим признакам паренхиматозной гиперплазии органа, другие органы и ткани были без макроскопических изменений.

При гистологическом исследовании селезенки животных, которым совместно вводилась вакцина и препарат «СТЭМБ» обнаружено развитие большого количе-

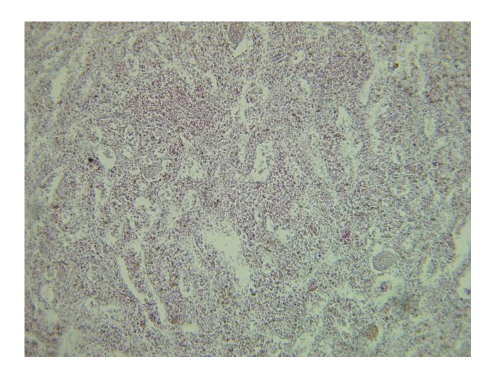


Рис.1. Селезенка кроликов контрольной группы. Слабая реактивность вторичных селезеночных фолликулов. Окраска гематоксилином и эозином, × 100.

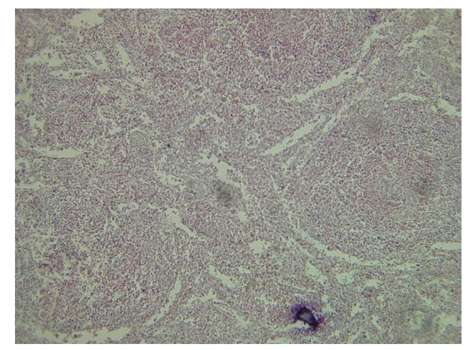


Рис.2. Селезенка кроликов опытной группы. Расширение площади белой пульпы селезенки за счет вторичных селезеночных фолликулов с выраженным герминативным центром. Окраска гематоксилином и эозином, × 100..

ства вторичных селезеночных фолликулов с герминативный центром, артериальная гиперемия, интенсивная инфильтрация паренхимы селезенки клетками белой крови, в особенности макрофагами и плазматическими клетками. При сравнительной оценке площади белой и красной пульпы селезенок животных первой и второй групп, определено, что площадь белой пульпы селезенки у кроликов, которым на фоне вакцины вводили препарат «СТЭМБ», составляет 62% ± 5,6 при Р≥0,05, что на 30% больше, чем у кроликов контрольной группы, где реактивность селезеночных фолликулов была сравнительно слабой (рис. 1, 2).

Вывод.

Полученные результаты свидетельствуют, о том, что препарат «СТЭМБ» оказал иммуномодулирующее действие на показатели поствакцинального иммунитета при введении вакцины поливалентной «ВГНКИ» против лептоспироза животных. Иммуномодулирующий эффект заключается в адекватной динамики образования антител в результате антигензависимой дифференцировки В-лимфоцитов селезенки в зависимости от специфической реакции организма животного на определенную серогруппу лептоспир.

Резюме: Для повышения эффективности специфической иммунизации наряду с улучшением кормления и содержания животных, целесообразно использовать биологически активные препараты, обладающие иммуномодулирующими свойствами. В эксперименте на кроликах выявлено, что препарат «СТЭМБ» оказал иммуномодулирующее действие на показатели поствакцинального иммунитета при введении вакцины поливалентной «ВГНКИ» против лептоспироза животных.

SUMMARY

To improve the effectiveness of specific immunization along with the improvement of feeding and keeping of animals, it is advisable to use the biologically active preparations possessing immunomodulating properties. In the experiment on the rabbits revealed that the «STEMB» has immunomodulating effect on the performance of postvaccinal immunity when the vaccine polivalentna «VGNKI» against leptospirosis of animals.

Keywords: immunomodulator, post vaccine immunity

Литература

1. Беляева. С.Н. Функциональные и иммуннобиохимические изменения у цыплят-бройлеров после применения биокорректора тимогена: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.13 / С.Н. Беляева. – Белгород, 2009. – 21 с.

2. Втюрин, С.В. Эффективность иммуномодулирующих средств при респираторных болезнях телят: автореф. дис. … канд. ветерин. наук: 16.00.03; 16.00.02 / С.В. Втюрин. – Нижний Новгород, 2006. – 24 с.

3. Гиесов, А.Ш. Синтез и некоторые фармакологические свойства низкомолекулярных цинксодержащих иммуноактивных пептидов: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.04 / А.Ш. Гиесов. – Душанбе, 2009. – 19 с.

4. Иванов, Д.В. Влияние препаратов хитозана на активность защитных механизмов организма у молодняка крупного рогатого скота: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.03.01 / Д.В. Иванов. – Боровск, 2010. – 24 с.

5. Комиссаров, В.Б. Совершенствование специфической профилактики ньюкаслской болезни у цыплят на основе применения иммуностимуляторов: автореф. дис. … канд. ветерин. наук: 16.00.04 / В.Б. Комиссаров. – Кострома, 2004. – 21 с.

6. Кривопушкин, А.В. Влияние натрия нуклеината на уровень естественной резистентности и иммунный статус организма поросят при вакцинации против лептоспироза: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.13 / А.В. Кривопушкин. – Белгород, 2009. – 19 с.

7. Мельникова, Н.В. Фармакологическая активность и эффективность применения вестина, полирибоната и фоспренила для повышения иммунологической реактивности молодняка животных и птиц при вакцинации: автореф. дис. … канд. ветерин. наук: 16.00.04 / Н.В. Мельникова. – Воронеж, 2002. – 19 с.

8. Патент № 2197251 РФ. Способ приготовления биостимулятора эмбрионального / Л.Д. Тимченко, И.В. Ржепаковский, В.В. Михайленко, Л.А. Гнездилова и др. - Опубл. 27.01.2003. - Бюл. № 3. – Ч. 3.

9. Ржепаковский, И.В. Разработка биостимулятора эмбрионального и оценка его эффективности при иммунодефицитных состояниях у животных раннего возраста: автореф. дис. … канд. биол. наук: 03.00.23, 16.00.02 / И.В. Ржепаковского. – Краснодар, 2003. – 24 с.

10. Рукавицын, М.И. Влияние иммунокорректоров (норстимулина, тимоактивина-199) и катозала на продуктивность кроликов при специфической профилактике вирусной геморрагической болезни (ВГБК): автореф. дис. … канд. биол. наук: 06.02.03; 16.00.03 / М.И. Рукавицын. – п. Родники Московская обл., 2007. – 24 с.

11. Старцева, Н.В. Иммунобиологическая характеристика препарата «Биостим-Т» на основе природных нуклеиновых кислот : автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.00.36 / Н.В. Старцева. – Пермь, 2004. – 23 с.

12. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии: Учебное пособие для вузов / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева // Под ред. В.К. Шильниковой. – М: Дрофа, 2004. – 256 с.

13. Тимченко, Л.Д. Основы микроскопической техники для биолога: Учеб. пособие / Л.Д. Тимченко, В.Н. Вакулин. – Ставрополь: Изд-во СГУ, 2005. – 164 с.

14. Тимченко, Л.Д. Профилактика акушерско-гинекологических болезней как основа пренатальной охраны здоровья молодняка крупного рогатого скота / Тимченко Л.Д., Вербовский В.П., Ржепаковский И.В. // Труды Кубанского государственного аграрно-

го университета. – 2010. - № 3 (24). – С. 111-114.

15. Трескин, М.С. Влияние тимогена на иммунный ответ при вакцинации птицы против ньюкаслской болезни: автореф. дис. … канд. ветерин. наук: 16.00.04 / М.С. Трескин. – Кострома, 2006. – 20 с.

16. Федянина, Л.Н. Иммуномодулирующая активность низкомолекулярной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из молок лососевых рыб: автореф. дис. … докт. мед. наук: 14.00.36 / Л.Н. Федянина. – Кострома, 2007. – 47 с.

17. Хаитов, Р.М. Иммуномодуляторы: механизм действия и клиническое применение /Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин //Иммунология, 2003. - №4. - С. 196-203.

Контактная информации об авторах для переписки

Ржепаковский Игорь Владимирович, ведущий научный сотрудник ПНИЛ «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии» НИИ прикладных биотехнологий Института живых систем Северо-Кавказского федерального университета, labim@stavsu.ru;

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая ПНИЛ «Экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии» НИИ прикладных биотехнологий Института живых систем Северо-Кавказского федерального университета.

УДК. 619:616.71-001

Ватников Ю.А.

(Российский университет дружбы народов)

ХАРАКТЕРИСТИКА КРОВЕТВОРЕНИЯ ПРИ МНОЖЕСТВЕННЫХ ТРАВМАХ У СОБАК

Ключевые слова: собаки, кроветворение, периферическая кровь, травма, прогноз.

Введение

Функциональная активность клеток костного мозга и периферической крови, реализация их функций, является основой в восстановительном процессе поврежденных тканей и органов. В этой связи, патогенетический анализ кроветворения в посттравматический период, основанный на изучении количественной динамики клеток, заслуживают пристального внимания, так как динамика клеток костного мозга, а равно интерпретация показателей периферической крови отражает глубину патологического процесса и предоставляет возможность осуществлять прогноз состояния животных, а также осуществлять терапевтические мероприятия с учетом показателей кроветворения.

Цель исследования. Изучить состояние кроветворения в посттравматический период у собак при множественных переломах.

Материалы и методы. В работе использовали на 11 спонтанно травмированных собаках живой массой 19-22 кг в возрасте от 8-ми мес. до 2,5 лет, с множественными травмами сочетающие в себе перелом бедренной кости и костей таза после дорожно-транспортных происшествий. Контроль над состоянием клинически больных животных осуществляли по клиническим признакам, принятым в ветеринарной травматологии. Исследование костного мозга и периферической крови брали у всех животных, поступающих на прием перед проведением лечебных мероприятий на 1 (n=4), 3 (n=3), 5(n=2) и 7-е (n=2) сутки после травмы. Статистический анализ полученных результатов от травмированных животных проводили методом вариационной статистики при помощи программного обеспечения Microsoft Excel 2007.

Результаты исследований. Исследование клеточного пула костного мозга (КМ) в жидкости Тюрка продемонстрировало нестойкую динамику миелокариоцитов. Установлено, что количественный их показатель на 1-е сутки после травмы, увеличился в 1,6 раза по сравнению с физиологическим показателем (ФП)